



TITLE:

霊長類の免疫的生化学的変異の検策と遺伝学的多型現象の解析: 霊長類各種における血液蛋白の遺伝的多型現象の検策(III 共同利用研究 2 研究成果)

AUTHOR(S):

並河, 鷹夫

CITATION:

並河, 鷹夫. 霊長類の免疫的生化学的変異の検策と遺伝学的多型現象の解析: 霊長類各種における血液蛋白の遺伝的多型現象の検策(III 共同利用研究 2 研究成果). 霊長類研究所年報 1971, 1: 83-84

ISSUE DATE:

1971-09-20

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/160423>

RIGHT:

個体差の問題を明らかにする必要がある。

ついでである道具的反應，本実験ではバー押し反應をしなければ，視覚刺激が提示されないような条件下でメタンフェタミン（2mg/kg, 0.5mg/kg, i. m.）がアカゲザルのバー押し反應に及ぼす効果を，上に述べた仮説にもとづいて，検討した。バー押し反應は時間と回数が記録された。光刺激はバーが押されている間提示された。同時に同じ装置内での自発的活動性が記録された。このような学習性場面においてもまた，メタンフェタミンはバー押し反應を完全に抑制した。つまり，外刺激のとり入れをやめたといえる。この意味で Berlyne の覚醒仮説は支持されたといえる。同時に記録された自発的活動性に関しては，上述の実験と同じように約半数のアカゲザルにおいて促進的，残りのアカゲザルにおいて抑制的に働いたといえる。

この研究結果は次の論文に報告された。

The differential effects of methamphetamine upon visual exploratory behavior and spontaneous motor activity in rhesus monkeys (*Macaca mulatta*). *Jap. Psychol. Res.*, 1971, 13 (In press)

霊長類の免疫的・生化学的変異の検策と遺伝学的多型現象の解析

一 霊長類各種における血液蛋白の遺伝的多型現象の検策一

並 河 鷹 夫 (名大・農・家畜育種)

目 的

霊長類の集団間の移動あるいは繁殖構造を追求する上で遺伝的形質を標識として用いることが信頼度の高い知見をもたらすものと期待される。その際用いられる標識遺伝的形質は集団内あるいは集団間で多型的に存在していることが必要とされる。遺伝的多型現象を提示する遺伝子座を探索することが本研究の目的である。

材料および方法

分析に供された各種霊長類の血液試料約 250 個体分は本研究所およびその他の集団から得られた。その大部分はニホンザルを初めとするマカク属の血液試料である。血液試料採取および分析は現在も進行している。したがってこれまで実施してきた 2 種の血液蛋白すなわち Hemoglobin 型および血清中 α_1 -antitripsin 型変異の分析方法の概略についてのみ報告する。

i) Hemoglobin 型の電気泳動的変異

薄層寒天ゲル電気泳動法によった。その使用緩衝

液系は次のごとくである。

○ Bridge buffer (pH8.6, $\mu=0.05$)

ジェチルバルビツール酸	1.84g
ジェチルバルビツール酸ソーダ	10.30g
脱イオン水	1000ml

○ Gel 組成および block

アガロース	1g
polyvinil pirlolidon	1.5g
Bridge buffer の 2 倍稀釈液	100ml
block (単位cm)	16×20×0.07

○ 通電 (定電流) 約 2 時間, 1 mA/10×0.7mm²

ii) α_1 -antitripsin 型の電気泳動的変異

不連続緩衝液系ゲンブングル電気泳動法を使用した。その緩衝液系等は次のごとくである。

○ anodal bridge buffer (pH 4.5)

citric acid	11.75g
Na ₂ HPO ₄ 2H ₂ O	15.7g
脱イオン水	1000ml

○ cathodal bridge buffer (pH9.0)

boric acid	9.25g
sodium hydroxide	3.0g
脱イオン水	1000ml

○ Gel 組成および block

加水分解ゲンブン	15g
stock buffer* (pH4.8)	7ml
*citric acid	21g
Tris	23g
脱イオン水	1000ml

○ gel block (単位cm) 12×20×0.6

slit は cathodal より 8 cm の位置に作る。

○ 通電 (定電圧) 8~10V/cm で brown line が原点より約 8.5cm 移動した時に泳動を止める (約 5 時間)。

結 果

調査された Hemoglobin 型および α_1 -antitripsin 型の電気泳動的変異はこれまでに報告されているそれらとの間での同定試験が未実施であり，又これらについての分析は他の研究者によって試験されるので本報告ではこれらの変異性の程度又は有無について概略を述べるにとどめる。分析結果の詳細については関連共同研究の成果の中で後日報告されるものと考える。

Hemoglobin 型についてニホンザル，タイワンザル，アカゲザル，カニタイザル，その他数種の霊長類について分析した結果，マカク属の種間を除けばほとんどの種の間で電気泳動的に区別ができる。しかし種内において変異の存在が確認された個体はない。特にニホンザ

ルは、これまでの報告と同様、100頭以上調査したが Hemoglobin 型に変異は認められない。

α_1 -antitripsin 型変異についても Hemoglobin 型の場合と同様の結果である。しかしマカク属のある種ではヘテロ型と思われるパターンが存在し、さらに分析する必要がある。一方リスザル等では上記分析方法では α_1 -antitripsin 型様のパターンは現われず分析は不可能である。したがってすべての霊長類におけるこの変異を分析するためには酵素活性を inhibit する性質を利用する等の他の方法によることも考えねばならないと思われる。

Hemoglobin 型および α_1 -antitripsin 型の電気泳動の変異は種内においては相当変異性に乏しいと考えられる。しかし分析例数が極めて少ない種が大部分であり、そのように断定することは決してできない。特に α_1 -antitripsin 型については他の報告によって種内変異の存在がマカク属の種内において確認されている。

ニホンザルの赤血球酵素変異*

石 本 剛 一 (三重県立大・医・法医)

*第15回プリマテス研究会, 1971年; 第55回日本法医学会, 1971年発表

近年血液中のさまざまな血清タンパクや血球酵素に遺伝変異(多型)を示す多くの形質が存在することがヒトをはじめ種々の霊長類で報告されている。多型性形質の研究から求められる遺伝子分布をマーカーとして集団間の遺伝的構成の比較を試みる事が可能となるが、ニホンザルの場合他種マカクにくらべ血液成分多型に関し変異性に乏しいという観察があるので (Ishimoto, et al., 1965; Goodman, 1967), 多数の血液試料を収集して種内変異を示す多型形質を探索することを目的に8種類の赤血球酵素について表現型の分析を試みた。そしていくつかの酵素型は250例をこえるニホンザル試料の調査で全て同一の表現型のみがみられたが、ある形質は数種表現型を示して多型的であること、他の2種酵素でもまれに変異型が出現することが認められた。さらに変異型の出現を群別に調べると変異遺伝子は一部の群にのみ偏って分布する傾向があると示唆される興味ある知見がえられた。

試料と方法

本研究に用いた試料は全て霊長研変異研究部で採取保存されたサル血液からなる。ヘパリン添加採血された血液は血漿分離後生理食塩水で充分洗滌され赤血球は -20°C に保存された。血球溶血液は使用時2倍量の蒸留水を加えて凍結融解させて作製した。血球試料の凍結保存期間は3日から2ヵ月程度まで試料により異なるが赤血球酵素型判定に支障ないと考えられた。検査例数は調査さ

れた形質により若干相違するが最も多数例調べられたPHIの場合表1に示すように7種以上の異なる群からえられたニホンザル (Fus と略す) 276例、および比較試料として他種マカク51例 (アカゲ Mul, タイワン Cyc, ブタオ Nem, ペニガオ Spe, カニクイ Iru を含む) の計327例である。調査された形質は主としてヒトで変異型の見出されている赤血球酵素を対象とし、方法はヒトの場合に準じ (Giblett, E.R., 1969), でんぷんゲル電気泳動と特異染色により分析された。

結 果

i) Phosphohexose isomerase (PHI) :

検査数 Fus 276, Mul 27, Cyc 20, Nem 2, Spe 1, Iru 1.

ヒトではまれに遺伝的変異型が出現する本酵素がニホンザルを含むマカクでより著しい変異性をもち既に8種表現型の存在が観察されている (Ishimoto, 1970)。本研究でその傾向を確認するとともにさらに新しく5種表現型を Fus および Mul に見出した。血球溶血液をPH8.0で電気泳動後 Fructose 6-phosphate を基質として染色するとサル PHI はヒトと異なり陽極側に1本または3本の成分として検出され、前者はホモ接合型後者はヘテロ接合型とみなされる。マカクの common type PHImac 1 表現型以外に Fus では2-1型が25例見出されるとともに今回の試料で推定される変異遺伝子のホモ接合型 PHImac 2 型が1例発見された。さらに新しい表現型7-1型(3例)8-1型(1例)もみられたが両表現型は Iru によく出現する5-1型を基準として区別される。他種マカクでは Mul の3例 Cyc の4例に変異型がみられ他は全て PHImac 1 型を示した。Mul の変異型は PHImac 9-1 型(2例)9型(1例)と名づけられた新しい表現型でそのアイソザイムは著しく負電荷を示す特徴的な泳動パターンをもち Cyc の変異型は全て同種にすでに観察されていた4-1型に一致した。図1, 2に PHI のでんぷんゲル泳動パターンを示し、表1にニホンザルの PHI 表現型の分布をまとめた。

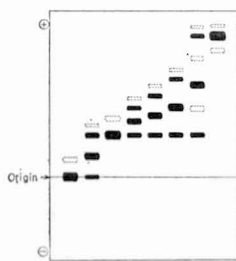


図1 マカク PHI 表現型模式図。本研究で観察された全表現型を泳動度の順に並べて示す。

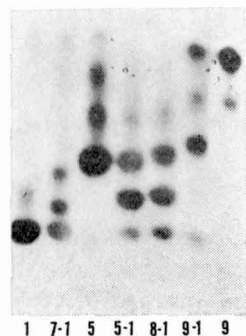


図2 マカク PHI でんぷんゲル泳動パターン。PHImac 5-1, 5 は Iru 比較試料。